



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria

**Expresión de los genes de los receptores TCR $\gamma\delta$ en la
mucosa intestinal de yeyuno de crías de alpaca
(*Vicugna pacos*)**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Simón Oswaldo MENDIZÁBAL JÁUREGUI

ASESOR

Alberto MANCHEGO SAYÁN

Lima, Perú

2016

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar la expresión de genes del receptor TCR $\gamma\delta$ (gamma y delta) en el epitelio yeyunal de crías de alpaca aparentemente sanas, de 2 a 47 días de edad, mediante la cuantificación de ARN mensajero (ARNm) de los genes antes mencionados utilizando cebadores específicos. Se tomó porciones de yeyuno, de 2 cm de longitud, de crías de alpacas aparentemente sanas (n=16). Se obtuvo el ARNm total de la mucosa de la porción media del yeyuno, el cual actuó como molde para la síntesis de ADNc mediante transcripción reversa (RT), seguida de un PCR en Tiempo Real para la amplificación y cuantificación de los ARNm de los polipéptidos que conforman las cadenas gamma y delta del TCR. Se utilizó el método $2^{-\Delta\Delta C_t}$ para la cuantificación relativa de ARNm teniendo como calibrador a dos crías recién nacidas sin consumo de calostro. Las crías de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas y de 4 a más semanas de edad expresaron el gen gamma en 4.75, 6.78, 16.24 y 103.11 veces lo expresado por los animales calibradores, respectivamente, y el gen delta fue expresado en 9.43, 20.78, 25.08 y 146.46 veces lo expresado por los animales calibradores, respectivamente. A partir de la cuarta semana de edad, se detectó diferencias estadísticas significativas ($p<0.05$), tanto en la cadena gamma como en la delta, mediante el uso de la prueba de Kolmogorov-Smirnov de 2 muestras. Los resultados demuestran que los genes gamma y delta se expresan en forma ascendente con la edad y que a partir de la cuarta semana de vida de las alpacas, la expresión de las cadenas gamma y delta aumenta considerablemente, indicando que los linfocitos T $\gamma\delta$ se incrementan en la mucosa intestinal al aumentar la edad.

Palabras claves: alpacas, TCR, gamma, delta, PCR, RT-PCR tiempo real, cuantificación relativa

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the expression of genes from the TCR $\gamma\delta$ receptor (gamma and delta) on jejunal epithelium of baby alpacas with no signs of illness, from about 2 to 47 days old, through quantification of messenger RNA (mRNA) of genes previously mentioned, using specific primers. This study was done by taking portions of jejunum, 2cm long, of baby alpacas with no signs of illness (n=16). Total mRNA was obtained from the mid portion of jejunum, which served as template for cDNA synthesis by reverse transcription (RT), followed by Real-Time PCR to amplify and quantify mRNA of polypeptides that shape gamma and delta chains of TCR. $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method was used to the relative quantification of mRNA, having 2 newborn alpacas that didn't consume colostrum as calibrators. Baby alpacas 1 week old, 2 weeks old, 3 weeks old and more than 3 weeks old expressed gamma gene 4.75, 6.78, 16.24 and 103.11 times the amount expressed by calibrators, respectively, and delta gene was expressed 9.43, 20.78, 25.08 and 146.46 times the amount expressed by calibrators, respectively. From the fourth week of age, statistical difference was detected ($p<0.05$), in gamma chain as in delta chain, by using two-sample Kolmogorov-Smirnov test. Results show that the expression of gamma and delta genes ascends with the age, and from the fourth week of age of alpacas, the expression of gamma and delta chains increases considerably, showing that population of T $\gamma\delta$ lymphocytes at the intestinal mucosa increases with the age.

Keywords: alpacas, TCR, gamma, delta, PCR, RT-PCR real time, relative quantification